HUMAN HEALTH AND EXPOSURE TO CHEMICALS WHICH DISRUPT ESTROGEN, ANDROGEN AND THYROID HORMONE PHYSIOLOGY

Dr. Michael Wade

Environmental and Occupational Toxicology Division
Environmental Health Directorate, HPB
Health Canada

Rm 315, Environmental Health Centre, Tunney's Pasture, P.L. 0803D
Ph: 946 -5127, Fax: 941 4768

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION 3

MECHANISMS OF ACTION 4
- Estrogens: 4
- Antiandrogens: 6
- Aryl Hydrocarbon Receptor Agonists: 6
- Thyroid Hormone Disrupters: 7

EPIDEMIOLOGICAL EVIDENCE: 8
- Table 1: Effects of human exposure to moderate doses of known endocrine disrupting substances. 8

HEALTH TRENDS IN HUMAN POPULATIONS 8
- Male Reproductive Tract Effects 9
- Breast Cancer 10
- Neurodevelopmental Effects 11

CONCLUSIONS: 11

ACKNOWLEDGEMENTS: 12

APPENDIX 1: HEALTH CANADA'S ACTIVITIES 13

REFERENCE LIST 14

INTRODUCTION

Recently, there has been a great deal of concern that wildlife and human health have been adversely affected by chemicals which can undermine the hormonal control of growth, development and reproduction [1-3]. This concern stems from observations of reproductive and developmental abnormalities in animal populations exposed to moderate or high levels of persistant pollutants, from health consequences in human populations accidentally exposed to high levels of these substances or developmentally exposed to pharmaceutical estrogens, and from trends in diseases of endocrine responsive tissues (increased incidence of birth defects of the male reproductive tract, increased breast, testicular, prostate, and thyroid gland cancers). In addition, laboratory studies on animals have demonstrated that low level exposure during fetal and neonatal periods to ubiquitous, persistent pollutants results in subtle, long term adverse effects on reproductive and neural function. These disparate observations have been synthesized by some into an overarching hypothesis that exposure to trace levels of anthropogenic chemicals has caused widespread adverse effects on reproductive health, immunity and intelligence in the general human population throughout the industrialized world. With the publication of the World Wildlife Foundation-sponsored book "Our Stolen Future" [4] this hypothesis has become a major public issue. Although there is little more than circumstantial evidence to support this hypothesis, governments worldwide are under increasing pressure from public and environmental NGOs to react quickly by imposing strict controls on all compounds that can influence the endocrine systems.

While the evidence supporting the link between adverse effects and high levels of exposure to known endocrine disrupters in certain human and animal populations is clear, the putative link with population-based trends in endocrine-related health effects in human populations is less apparent. In this paper, I will briefly describe the four classes of environmental endocrine disrupting substances most widely cited as being responsible for endocrine disrupting activity: estrogens, antiandrogens, thyroid hormone disrupters and aryl hydrocarbon receptor agonists. In addition, I will discuss the hypothesis that disease trends in western human populations can be influenced by anthropogenic endocrine disrupting chemicals.

MECHANISMS OF ACTION

Multicellular animals have two general mechanisms of coordinating the activities of tissues and organs throughout the body: nervous and endocrine communication. The former is achieved through rapid transport of electrochemical signals through networks of highly modified nerve cells and generally serves to coordinate rapid or closely timed events (minutes to seconds or less). Endocrine communication involves the transfer of chemical signals (hormones) from secretory cells, through the general circulation to target cells. Endocrine communication tends to coordinate events over a much longer period of time (minutes to weeks or months). The hormone signal is received by the target cells through hormone interaction with highly specific receptors and the generation of an intracellular signal that alters cellular function. Hormone receptors bind their target hormones with very high affinity such that physiologically relevant concentrations of hormones are usually vanishingly small and very subtle changes in circulating concentration have large impacts on target cell response.

The coordinated growth, development and maturation of animal bodies involve an intricate interaction of hormonal signals whose timing and dose can have permanent consequences for future form and function of many tissues. While hormonally active compounds can alter the reproductive function in sexually mature organisms, these effects only occur at high doses and are generally alleviated when exposure to the active substance ceases. In contrast, exposure to much lower doses during critical developmental periods, when cells are differentiating, can alter the course of development of these tissues and this may result in permanent changes in the character of the tissues in mature animals. The development of the reproductive and nervous tissues, in particular, are very sensitive to the actions of sex steroid and thyroid hormones respectively. As these hormones are also those whose action and metabolism have been shown to be influenced by a variety of chemicals, exposure to these chemicals during development has the potential to influence the structure and function of the reproductive and central nervous systems in adulthood. Any toxin that can influence the production, release, plasma transport, action or metabolic clearance of these hormones has the potential to cause adverse effects. The four most widely demonstrated and studied mechanisms of hormonal disruption are 1) estrogen receptor activation 2) androgen receptor inhibition, 3) aryl hydrocarbon receptor activation and 4) alteration of thyroid hormone release, transport and metabolism.

Estrogens:

A variety of structurally dissimilar chemicals have been shown to act like the endogenous hormone estradiol in that they can bind to and activate the estrogen receptor (ER) [5]. The ER is one of a family of ligand-activated DNA transcription-activating factors, including the receptors for other small hormones such as androgen, progesterone, glucocorticoids, mineralocorticoids, thyroid hormone and retinoids, which directly regulate gene expression [6]. Anthropogenic chemicals identified as activators of the ER include pesticides, some deregistered (*o,p'*- DDT, chlordecone) and some still in use in Canada (methoxychlor), metabolites of PCB congeners, commercial chemicals used in a wide variety of industrial and domestic applications (bisphenol A, alkylphenols) and a variety of natural plant or fungal products in the human diet (genistein, daidzein, coumestans, etc.). The potency of each of the compounds in the above list is considerably lower than estradiol in activating the ER ranging from 10^{-1} to 10^{-4} for genistein and coumestans (depending on the estrogenicity assay system utilized) to 10^{-5} to

10^{-7} for methoxychlor [7;8]. Many of these compounds have the potential to disrupt reproductive function in adult rodents and many can cause permanent alterations in structure or function of the reproductive tract of rodent pups born to dams exposed during pregnancy [9].

Evidence that humans are also susceptible to the teratogenic effects of estrogens comes from the clinical consequences of gestational exposure to a pharmacological estrogen, diethylstilbestrol (DES: [10] and references therein). Beginning in the early 1940s, DES was prescribed to several million pregnant women in the mistaken belief that it would prevent miscarriage. While DES had little impact on the mother, its deleterious effects on the fetus were not evident until the early 70s when it was discovered that young women who were exposed as fetuses had a greatly increased risk of developing a rare form of vaginal cancer. Fetal exposure to DES has also been linked to a variety of structural and functional defects of the reproductive tract and the immune system, in both sexes and, like the vaginal cancer, these effects are not evident until many years after the exposure had occurred. In addition to these, many teratogenic effects of DES in reproductive tracts of rodents have been identified [11]. Both these and the clinical experience of DES demonstrate that estrogens play a dual role as morphogens during development and cell regulators in adult animals.

While exposures to high levels of estrogens, such as the pharmacological doses of DES, can cause clinically relevant effects, studies in rodents suggest that low doses can have subtle, adverse effects that may not result in overt disorders. Studies have shown that, in litter-bearing animals, the sex of adjacent fetuses in utero, and hence the levels of sex steroid hormones diffusing from those nearest in utero neighbors, can influence the development of the reproductive tract and brain [12]. The in utero positional effect causes male mice which develop between two female fetuses (0M) to have significantly larger prostate glands with a higher content of androgen receptors, higher sperm production and to be more aggressive than male litter mates who developed between two males (2M) [12]. Effects are also seen in female pups with 0M females having shorter estrus cycles, higher mating success and being less aggressive than 2M litter mate females. This effect is due to the 0M fetuses receiving a slightly higher exposure to estradiol that diffuses from adjacent female fetuses. These effects have also been reported in all male pups of dams dosed with low levels of estrogens, including estradiol and DES [13] bisphenol A [14;15] and methoxychlor [16;17]. These studies also suggest that the toxicological effects of prenatal estrogen exposure, unlike effects of other threshold-type toxicants, do not show a standard dose response relationship. For example, a dose response curve depicting the prostate gland size in adult mice vs dose of DES received in utero depicts an initial increase in size with increasing dose followed by a decrease until, at the highest dose tested, prostate glands are significantly smaller than those of comparable control mice [13]. The qualitative changes in response and the presence of 2 potential "thresholds" (i.e. doses at which prostate size is equivalent to control) raise concerns that the risk assessment tools for calculating safe levels of exposure, which assume a single qualitative direction of response (i.e. an increase in magnitude of response with increasing dose beyond a minimum threshold dose) are inadequate for estrogenic chemicals [13]. It should be noted that the inverse U-shaped dose-response relationships for estrogenic substances on prostate weight described above have not been seen by several other laboratories who have tested these same compounds under apparently identical conditions [18;19 among others]

Arguments that industrial and agricultural compounds with estrogenic properties are disrupting reproductive development have been challenged on the grounds that the sum of estrogenic activity of all identified anthropogenic chemicals to which the general population is exposed is minute compared to

the total estrogenic activity consumed [20]. In comparison, the dietary content of natural plant and fungal compounds with estrogenic activity is huge with active compounds present in a broad assortment of food products [21]. The health effects associated with exposure to phytoestrogens is a rapidly growing field of research and many effects, both beneficial and adverse, have been identified [21;22]. However, the effects of any estrogenic substance on tissue response, and, therefore, its impact on health, are a consequence of the amount of material that reaches target organs (tissue dose) in addition to its estrogenic potency. Tissue dose is influenced by rapidity with which the substance is metabolized and excreted from the body, by the degree to which the material adheres to proteins in the bloodstream, among many other characteristics. The difference in these latter two characteristics between persistent environmental estrogens and the majority of plant estrogens illustrates that estrogenic potency alone cannot predict animal responses to exposure. Plant estrogens tend to be more tightly bound to serum proteins and, therefore, less available for uptake and biological action in tissues than some anthropogenic estrogenic chemicals [22a]. In addition, plant "estrogens" also influence a wide variety of other cellular processes at roughly the same dose levels [21] suggesting that beneficial effects of plant estrogens may not be due to estrogenic action. To further confuse the issue it is becoming increasingly apparent that the responses to "estrogenic" chemicals are tissue- and developmental stage-specific such that it is not possible to predict the effects of developmental exposure to a given compound based solely on its estrogen receptor activation potency [7;23].

Antiandrogens:

Recently, a number of compounds, including the widely used fungicide vinclozolin [24;25] and widespread environmental contaminants DDE, a metabolite of DDT, [26]and Tris(4-chlorophenyl)methanol [27] were found to inhibit the interaction of the androgen receptor with its endogenous ligands, 5a-dihydrotestosterone and testosterone. As with environmental estrogen exposure, antiandrogens have the greatest effects during critical periods in the development and hormonal imprinting of the reproductive organs but are relatively nontoxic in mature animals [3;28;29]. However, these three identified environmental antiandrogens have low potency and require very high rates of exposure to cause adverse effects on the sexual development of male animals. Of these, DDE represents the greatest risk as, in areas where DDT is still widely used for residential mosquito control, human exposures approach the levels that induce reproductive tissue effects in rats [26].

Aryl Hydrocarbon Receptor Agonists:

The aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-activated nuclear receptor for which no known endogenous ligand has been identified [30]. It is believed to initiate a mechanism to defend against ingested organic toxins as it is activated by a wide assortment of polyaromatic compounds. Activation of the AhR causes a restriction of normal cellular function and the induction of enzymes which can degrade a wide spectrum of small organic molecules. For a "natural" AhR ligand such as indole-3-carbinol (present at moderate levels in broccoli and other cruciferous vegetables) induction of these enzymes causes rapid metabolism and excretion of the ligand. As the ligand is metabolically cleared the signal diminishes and cellular activity returns to normal. The most potent AhR activators are the highly persistent organochlorine contaminants, dioxins and furans, which are produced as

byproducts of a broad spectrum of human activities including waste incineration, smelting, combustion of coal or diesel fuel, and chlorination of wood pulp. Activation of the AhR by these persistent ligands results in the same decrease in normal cellular functions and the synthesis of detoxifying enzymes. However, as dioxins and furans are highly resistant to the actions of these or other cell defense mechanisms, they remain unmetabolized, the AhR signal continues and normal cellular activities remain suppressed. The consequences of this are most apparent when it occurs during development. Very low level exposure of developing male rat fetuses to dioxin has been shown to cause subtle, long term effects on the structure [31] and function [32-34] of various reproductive organs and alteration of reproductive behavior [33] in male rats. Similar effects were also noted in male rats exposed to a natural, food-borne AhR agonist, indole-3-carbinol, albeit at higher doses, suggesting that even transient activation of this signaling system can disrupt reproductive development [35].

Thyroid Hormone Disrupters:

Thyroid hormone is crucial for the differentiation of virtually every tissue in the growing fetal and juvenile body and regulates aspects of energy metabolism in the adult. A variety of substances, both anthropogenic and natural, have been shown to cause decreases in circulating thyroid hormones through a variety of mechanisms, the details of which are beyond the scope of this review. The effects of thyroid disruption during development can be seen in a great variety of systems within the body but reproductive and neurodevelopmental effects are the most significant [36]. Extreme thyroid disruption can influence the development of the male reproductive tract [37-39] and subsequent endocrine control of reproduction [40] The developing central nervous system, however, is far more sensitive to decreases in thyroid hormone levels [41;42]. PCBs and several other persistent organochlorines have been shown to decrease the circulating levels of thyroid hormones in experimental animals [43] and exposure to these has been correlated with reduced [44] or increased [45] circulating thyroid hormone in human subjects. As disturbances in thyroid hormone status in utero and after birth result in long term cognitive impairment in children [46;47] exposure to agents that disrupt thyroid hormone physiology during pregnancy has the potential to impair neurodevelopment. However, it is currently unclear as to the extent of thyroid hormone disruption required or the most sensitive developmental periods to produce neurodevelopmental deficiencies. Also, the general population in Canada is exposed to a variety of other compounds in their diets and in tobacco smoke which can decrease circulating thyroid hormone levels [48;49] and the effects of these, in addition to the effects of persistent environmental contaminants, on neurodevelopment remains to be resolved.

EPIDEMIOLOGICAL EVIDENCE:
Do Known Endocrine Disrupters Cause Adverse Human Health Effects?

Evidence of human impacts of EDS come from specific cases of inadvertent high dose exposure to known endocrine disrupters through industrial accidents, food contamination or, in the case of DES, pharmacological dosing during critical periods of development. The best examples of these effects are listed in Table 1. In most cases, the consequences of human exposure mimic the effects seen in animal models.

Table 1: Effects of human exposure to moderate doses of known endocrine disrupting substances.

Agent Administered	Mechanism	Effects	Ref
DES	Estrogen receptor activation	Prenatal exposure causes vaginal cancer, uterine deformities, infertility in women, low sperm production, hypospadias, cryptorchidism in men	[50], [10] and references cited therein
Kepone	Presumed estrogen receptor activation	Occupational exposure of men causes azospermia and infertility	[51]
Dioxin	Aryl hydrocarbon receptor activation	Exposure of adults leads to chloracne, increased risk of cardiovascular disease; Increased risk of cancers of thyroid gland, soft tissues, leukemia; decreased risk of breast cancer. Fetal exposure leads to spontaneous abortion, birth defects, poor growth of teeth. Maternal and neonatal serum dioxin levels are negatively correlated with thyroid hormone levels.	[44;52-54]
PCB and dibenzofurans	AhR, increased metabolic clearance of thyroid hormone, sex steroids, others	Exposure of adults results changes in thyroid status, skin lesions; fetal exposure results in neurodevelopmental impairments, immunodeficiencies, hearing deficits, genital modifications.	[55-57]
Consumption of Contaminated Fish (PCBs, heavy metals, DDE)	AhR, Altered hormone metabolism, Non-AhR - altered brain neurochemistry	Cognitive deficits, neural developmental delays, smaller birth size in infants, children from mothers who consumed Great Lakes fish during pregnancy. Shorter menstrual cycles in Great Lakes fish consuming women.	[58-60, 60a,b]

HEALTH TRENDS IN HUMAN POPULATIONS
Do EDS Cause Them?

Increases in the incidence of cancer in reproductive organs and declines in other indicators of reproductive health in human populations in the industrialized world are frequently cited as evidence that widespread exposure of the general population to estrogenic, antiandrogenic and EDS with other mechanisms has had adverse impacts on human health [3;61-63]. In particular, increases in the

incidence of breast and testicular cancers in Europe and North America, which cannot be adequately explained by improved diagnosis, are the most frequently cited cases [61;64;65]. Arguments that these trends could be due to industrial and agricultural chemicals are based only on the fact that these trends coincide roughly with the increasing use and release into the environment of these chemicals and based on plausible mechanisms of action. To date, however, there is no firm evidence that any of these health trends are associated with exposure to specific industrial chemical agents whether endocrine active or not.

Male Reproductive Tract Effects

Arguments that EDS are influencing male reproductive health come from Richard Sharpe, Niels Skaakabek and their colleagues who argue that prenatal chemical exposure has caused adverse effects in the reproductive tracts of men throughout the industrial world [65-67]. Evidence of declining male reproductive health in industrialized countries comes from studies suggesting global [68;69] and regional [70;71] declines in semen quality, increased incidence of cryptorchidism and hypospadias (birth defects of the male reproductive tract) [72;73] and a decline in the ratio of male to female infants at birth [74]. The existence of an historical decline in semen quality and sperm counts, however, has been hotly contested [75-77] as any comparison between studies is difficult due to great methodological differences in subject selection and sample analysis [78]. Nonetheless, Sharpe argues [66] that the strong epidemiological associations between testicular cancer, low sperm count, infant cryptorchidism or hypospadia and reduced likelihood of fathering a male child suggest a common etiology for these trends [79-83]. The discovery that some widely used compounds (e.g. DDT) had hormonal activity was used to suggest that these effects were due to estrogen exposure during development. This hypothesis was based on evidence that men exposed to DES in utero had a higher incidence of cryptorchidism and hypospadias as infants and had lower sperm counts as adults [10;84], although these men showed no significant change in risk of testicular cancer [50] than comparable unexposed men. In addition, animal studies of the control of testicular development clearly demonstrate that prenatal and neonatal exposure to estrogen leads to reduced sperm production, altered patterns of testicular and reproductive tract development and increased incidence of testicular cancer [85;86]. There is also epidemiological evidence suggesting that sons of mothers who are occupationally exposed to pesticides, some of which have estrogenic or antiandrogenic activity (no exposures were quantified), have a higher incidence of cryptorchidism [87;88]. While no specific chemical agents are proposed as the culpable estrogenic or antiestrogenic agent causing adverse effects in humans, four categories of exposures have been suggested [66]: 1) municipal drinking water contaminated with synthetic estrogens from urine of women taking persistent therapeutic estrogen (birth control or estrogen replacement therapy), 2) hormones as growth promoters in animal husbandry (estrogens, DES), 3) dietary content of natural plant estrogens and 4) exposure to industrial and agricultural chemical residues or their metabolites, especially persistent organic pollutants. Of these, the plant estrogens probably represent the highest level of exposure while the industrial, agricultural chemical exposure represents a much smaller dose of estrogenic chemical [20] although the total estrogenic activity from the latter class is not fully known as estrogen activity of the vast majority of commercial chemicals is largely unexplored. The lack of a correlation between the highest incidence of testicular cancer and the regions where the highest historic exposure to persistent organic pollutants (dioxins, PCBs) would be expected suggests

that persistent organic pollutant exposure is not responsible for this trend [89]. Alternative explanations for these trends iclude higher maternal and paternal ages at birth which have been correlated with risk of cryptorchidism and testicular cancer [90] or in utero exposure to some other, unidentified agent(s) which interfere with development of the reproductive tract [80].

Breast Cancer

The evidence supporting a causal link between increased breast cancer incidence and exposure to endocrine disrupting substances is also limited. The incidence and rate of mortality from breast cancer increased steadily from the 1940 through the 1990s in many industrialized countries [62;91]. Exposure to estrogens, either endogenous (estradiol) or pharmacological (estrogen replacement therapy), leads to an increased risk of breast cancer [92] presumably because of the proliferative action of estrogen on breast tissue [93]. While a variety of other risk factors for breast cancer have been identified, it has been argued that these can only account for, at best, 30% - 50% of the observed increase in breast cancer incidence and mortality [61]. Several organochlorine compounds (PCBs, DDT), which were widely released into the environment in industrialized nations between the 1940s and 1970s, have been shown to act as weak estrogens [94;95]. It has been suggested that these compounds, being both persistent and strongly lipophilic, would accumulate in the fat pads in which breast tissue is embedded and may have contributed to tumour formation [64]. The epidemiological link between exposure to DDT, PCBs, or other organochlorines, has now been heavily studied and there is little evidence to support a causal association. While several small studies have found increased levels of specific organochlorine contaminants (DDT metabolites, PCBs or others) in women with nreast cancer, the inculpated compounds differed between studies where positive correlations were found. Larger studies with greater statistical power, failed to find any relationship ([96-99] and many others). Other epidemiological evidence suggests that exposure to dioxin, an AhR agonist with antiestrogenic activity, and dietary estrogens, such as certain phytoestrogens, may have a preventative effect against breast cancer suggesting that modulation of this hormonal pathway by dietary factors can influence the progress of this disease [22;100]. In addition to adult exposure, prenatal exposure to low levels of estrogens may predispose women to develop breast cancer. This is suggested by epidemiological studies showing that women born to mothers with pre-eclampsia, a condition where estrogen levels are deficient during pregnancy, or women who were dizogotic twins, and, therefore, experienced higher endogenous estrogen exposure, have risks for breast cancer which are lower and higher, respectively, than women from normal pregnancies [101;102]. The potential of other nonpersistent industrial chemicals with estrogenic activity, such as bisphenol A or nonylphenol, to contribute to breast cancer incidence is unclear [103;104] but, as total exposures to anthropogenic estrogens are estimated to be well below exposures to endogenous estrogens, their contribution to breast cancer progression is likely inconsequential.

An alternative explanation for the changing incidence of breast cancer suggests that increased risk due to the interaction of recognized risk factors has been under estimated. The trend for women to delaying pregnancy until later in life, have fewer children and breast feed for a shorter period, in addition to beginning menstruation at an earlier age and entering menopause at a later age, than previous generations exposes modern women to greater numbers of estrogen surges which are associated with their menstrual cycles. It has been estimated that the breast tissue in the average 25-year-old woman in

the 1990s has gone through more estrogen-stimulated proliferations than the breast tissue of her grandmother at menopause [105;106]. As more proliferative cycles mean greater potential for the action of a carcinogen and greater potential of the promotion of a transformed cell into a tumour, this will likely lead to an increased risk.

Neurodevelopmental Effects

Other evidence that environmental contaminants may have adversely affected human health comes from studies that suggest that exposure to PCBs, or some other anthropogenic contaminants, in utero can have adverse effects on cognitive development. This is the conclusion of several studies where maternal tissue PCB and DDT levels are inversely correlated to infant or child performance on scales which assess neurodevelopment and cognitive or motor ability [107-109]. In addition, evidence of neurodevelopmental and cognitive deficits in children whose mothers ate contaminated Great Lakes fish suggest that these effects persist well into childhood and adolescence [58-60]. These studies also suggest that the levels of PCB exposure which correlated with significant effects were at the upper end of what is considered to be the background levels suggesting that effects may already have occurred in the general population [110]. It should be noted that in most studies, deficits reported are not large and scores among PCB-exposed children are well within clinically accepted norms. However, small neurodevelopmental deficits occurring in a large number of individuals would still constitute a serious public health problem. Deficits that have been reported include alterations in attention, memory, habituation and cognitive processing [59;110a]. The interpretation of these results have been criticized on methodological grounds including the validity and reliability of the psychometric tests, the reliability and sensitivity of the analytical methods for PCB measurement, failure to control for appropriate confounding variables and failure to measure concurrent exposure to other neurotoxicants such as mercury [110b, 111]. However, observations of PCB-induced neurotoxicity in humans is corroborated by studies demonstrating reduced performance in tests of learning and memory in rats or monkeys exposed to PCBs [60b;110b;112;113, 113a]. Neurodevelopmental impairments in animals have been consistently observed in studies using doses that are higher than the equivalent human exposure and a number of these impairments are comparable to neurodevelopmental impairments reported to occur in humans. While alterations in thyroid function produced by endocrine disrupting chemicals probably plays a role in the evolution of these neurodevelopmental impairments, it is more likely that altered thyroid function plays a role in modulating the impact of contaminants on other neurochemical systems which are more directly responsible for neurobehavioral dysfunctions.

CONCLUSIONS:

While there is little compelling evidence that EDSs have adversely affected human health in a widespread fashion, current evidence does not refute this hypothesis. Unlike the case with high doses of DES causing increased incidence of a rare cancer, the subtle effects anticipated from low dose exposure to compounds influencing reproductive hormone physiology or thyroid hormone physiology would be unlikely to cause obvious changes in the incidence of notable, clinically identifiable conditions. Also, at least some of the suspected mechanisms by which anthropogenic chemicals are purported to be causing adverse health effects are shared with various natural compounds that are present as normal

components of our diet. The exposure to these latter compounds, such as the estrogen genistein in soybean products [22] the AhR agonist indole-3-carbinol and thyroid-disrupting glucosinolates [49;99] both in cruciferous vegetables, represent far greater potential endocrine activity than the potential due to background levels of active anthropogenic compounds. Consumption of large amounts of these vegetables has been linked to some adverse reproductive effects [21,22] but moderate consumption is associated with health benefits such as reductions in various endocrine-sensitive cancers [20;49]. There is also a growing recognition that xenoestrogens and other hormonally active compounds can act in a tissue and developmental stage-specific manner which cannot be predicted simply on the basis of receptor affinity (i.e. a compound which activates receptor-mediated gene expression under some conditions may inhibit the same response under other conditions [23]).

There is, therefore, continued justification for basic laboratory and epidemiological research to determine the true extent of human health impacts due to exposure to anthropogenic chemicals. This conclusion has been reiterated by several recent assessments from high profile organizations, such as the US EPA [114], US National Academy of Science [2], the European Commission [1], and the American Council on Science and Health [114]. Given the preliminary nature of current scientific understanding of the role of developmental perturbations of endocrine physiology in the etiology of disease, the scope of health effects which endocrine active toxicants could potentially affect, and the transboundary movements of many persistent organic pollutants which have endocrine disrupting capacity, this will likely remain a hotly debated issue and a high priority for research for many years to come.

ACKNOWLEDGEMENTS:

Many thanks to Dr. S Clarkson, and the members of the HPB Endocrine Disrupting Substances Working Group, particularly Daniel Desaulniers, Gerard Cooke, Wayne Bowers and Mark Feely, for their helpful comments on this paper.

APPENDIX 1: HEALTH CANADA'S ACTIVITIES:

The potential for endocrine disrupting substances (EDS) to cause adverse health effects in human populations, including cancer, birth defects, and neurological and reproductive impairments is an issue that Health Canada takes very seriously. Health Canada has adopted a strategy which consists of three main components: 1) research, 2) coordination and cooperation, and 3) contribution to test method development. **Research:** Due to the preliminary nature of basic scientific understanding of EDS and the potential policy implications indicated by any connection to human health, a strong research component is essential to an effective strategy to address this issue. There are a number of research scientists in several divisions within HPB whose research programs directly address the issue of EDS health effects. In addition, Health Canada has administered a recent initiative to fund novel EDS research through the Toxic Substances Research Initiative, a $40 million program which specifically targets EDS as one of 5 concerns related to toxic substances in the environment. ***Coordination and Cooperation***: In order to coordinate Health Canada's activities on EDSs a working group has been convened including scientists and managers from various divisions of Health Canada, including the Pest Management Regulatory Agency (PMRA). This group provides a forum for sharing current knowledge regarding EDS within Health Canada, identifying priorities for research and other activities, and to integrate the Health Canada's program with initiatives in other departments through membership in the 5NR Working Group on EDS. ***Test Method Development***: As yet, there are no validated, predictive toxicity tests available to screen for endocrine toxicity. Health Canada has representation on the Organization of Economic Cooperation and Development committee, the Task Force on Endocrine Disrupters Testing and Assessment, which is developing a comprehensive battery of tests to identify chemicals with the potential to adversely effect endocrine physiology.

REFERENCE LIST:

[1] Working Group on Endocrine Disrupters Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE). CSTEE Opinion on Human and Wildlife Health Effects of Endocrine Disrupting Chemicals, with emphasis on Wildlife and Ecotoxicology Test Methods. European Commission; 1999. Available at: http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/sct/out37_en.pdf

[2] Hormonally Active Agents in the Environment. Washington: National Academy Press; 1999. Full text available at: http://books.nap.edu/books/0309064198/html/R1.html#pagetop

[3] Colborn T, Vom Saal FS, Soto AM. Developmental Effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 1993; 101: 378-384.

[4] Colborn T, Dumanoski D, Peterson-Meyers J. Our Stolen Future. New York: Plume; 1997.

[5] McLachlan JA. Functional Toxicology: A new approach to detect biologically active xenobiotics. Environ. Health Perspect. 1993; 101: 386-387.

[6] Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. Annu. Rev. Biochem. 1994; 63: 451-486.

[7] Hyder SM, Kirkland JL, Loose-Mitchell DS, Makela S, Stancel GM. Differential Regulation of gene expression by estrogenic ligands: A potential basis for the toxicity of environmental estrogens. In: Naz RK (ed.), Endocrine Disrupters: Effects on Male and Female Reproductive Systems. Boca Raton: CRC Press; 1999: 165-186.

[8] Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson J. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors a and b. Endocrinology 1997; 138: 863-870.

[9] Bern HA. The Fragile Fetus. In: Colborn T, Clement C (eds.), Chemically-Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection. Princeton: Princeton Scientific Publishing Co.; 1992: 9-15.

[10] Marselos M, Tomatis L. Diethylstilboestrol: I, Pharmacology, Toxicology and carcinogenicity in humans. Eur. J. Cancer 1992; 28A: 1182-1189.

[11] Marselos M, Tomatis L. Diethylstilboestrol: II, pharmacology, toxicology and carcinogenicity in experimental animals. Eur. J. Cancer 1992; 29A: 149-155.

[12] Vom Saal FS. Sexual differentiation in litter-bearing mammals: influence of sex of adjacent fetuses in utero. J. Anim. Sci. 1989; 67: 1824-1840.

[13] Vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997; 94: 2056-2061.

[14] Nagel SC, Vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. Environ. Health Perspect. 1997; 105: 70-76.

[15] Vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Parmigiani S, Welshons WV. A

physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. Toxicol. Ind. Health 1998; 14: 239-260.

[16] Welshons WV, Nagel SC, Thayer KA, Judy BM, Vom Saal FS. Low-dose bioactivity of xenoestrogens in animals: fetal exposure to low doses of methoxychlor and other xenoestrogens increases adult prostate size in mice. Toxicology and Industrial Health 1999; 15: 12-25.

[17] Vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, Boechler M, Parmigiani S, Welshons WV. Estrogenic pesticides: binding relative to estradiol in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behavior in male mice. Toxicol. Lett. 1995; 77: 343-350.

[18] Cagen SZ, Waechter JM, Jr., Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, Joiner RL, Shiotsuka RN, Veenstra GE, Harris LR. Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A [In Process Citation]. Toxicol. Sci. 1999; 50: 36-44.

[19] Ashby J. Dose levels of 0.01-0.2 microg/kg/day diethylstilbestrol are not suitable for use as a positive control in endocrine toxicity studies [In Process Citation]. Regul Toxicol Pharmacol 1999; 29: 235-237.

[20] Safe SH. Environmental and Dietary estrogens and human health: Is there a problem? Environ. Health Perspect. 1995; 103: 346-351.

[21] Hughes CL. Endocrine Modulation in Humans from Dietary Exposures: The Issues. In: Dunaif GE, Olin SS, Scimeca J, Thomas JA (eds.), Human Diet and Endocrine Modulation: Estrogenic and Androgenic Effects. Washington, D.C.: ILSI Press; 1998: 20-36.

[22] Patisaul HB, Whitten.P.L. Dietary Phytoestrogens. In: Naz RK (ed.), Endocrine Disrupters: Effects on Male and Female Reproductive Systems. Boca Raton: CRC Press; 1998: 89-123.

[22a]Crain DA, Noriega N, Vonier PM, Arnold SF, McLachlan JA, Guillette LJ,Jr. 1998 Cellular bioavailability of natural hormones and environmental contaminants as a function of serum and cytosolic binding factors. Toxicology and Industrial Health 1998; 14:261-273.

[23] Stancel GM, Boettger-Tong HL, Chiappetta C, Hyder SM, Kirkland JL, Murthy L, Loose-Mitchell DS. Toxicity of endogenous and environmental estrogens: what is the role of elemental interactions? Environ. Health Perspect. 1995; 103 Suppl 7: 29-33.

[24] Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Laws SC, Gray LE, Jr. Environmental hormone disruptors: evidence that vincozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. Toxicol Appl Pharmacol 1994; 126: 276-285.

[25] Gray LE, Jr., Ostby JS, Kelce WR. Developmental effects of an environmental antiandrogen: the fungicide vinclozolin alters sex differentiation of the male rat. Toxicol Appl Pharmacol 1994; 129: 46-52.

[26] Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Jr., Kemppainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. Nature 1995; 375: 581-585.

[27] Foster WG, Desaulniers D, Leingartner K, Wade MG, Poon R, Chu I. Reproductive effects of tris(4-chlorophenyl)methanol in the rat. Chemosphere 1999; 39: 709-724.

[28] Gray LE, Jr., Kelce WR. Latent effects of pesticides and toxic substances on sexual differentiation of rodents. Toxicology and Industrial Health 1996; 12: 515-531.

[29] Gray LEJ. Chemical-Induced Alterations of Sexual Differentiation: A Review of Effects in Humans and

Rodents. In: Colborn T, Clement C (eds.), Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection, Advances in Modern Environmental Toxicology ed. Princeton, NJ: Princeton Scientific Publishing; 1992: 203-230.

[30] Safe SH. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and related environmental antiestrogens: Characterization and mechanism of action. In: Naz RK (ed.), Endocrine Disrupters: Effects on Male and Female Reproductive Systems. Boca Raton: CRC Press; 1999: 187-221.

[31] Mably TA, Bjerke DJ, Moore RW, Gendron-Fitzpatrick A, Peterson RE. *In utero* and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. Toxicol Appl Pharmacol 1992; 114: 118-126.

[32] Mably TA, Moore RW, Peterson RE. *In utero* and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8,-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. 1. Effects on androgenic status. Toxicol Appl Pharmacol 1992; 114: 97-107.

[33] Bjerke DJ, Sommer RJ, Moore RW, Peterson RE. Effects of *in utero* and lactational 2,3,7,8,-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure on responsiveness of the male rat reproductive system to testosterone stimulation in adulthood. Toxicol Appl Pharmacol 1994; 127: 250-257.

[34] Gray LE, Jr., Kelce WR, Monosson E, Ostby JS, Birnbaum LS. Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male Long Evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory gland weights in offspring with normal androgenic status. Toxicol Appl Pharmacol 1995; 131: 108-118.

[35] Wilker C, Johnson L, Safe S. Effects of developmental exposure to indole-3-carbinol or 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive potential of male rat offspring. Toxicol Appl Pharmacol 1996; 141: 68-75.

[36] Hetzel BS, Mano MT. A review of experimental studies of iodine deficiency during fetal development. J. Nutr. 1989; 119: 145-151.

[37] Hardy MP, Sharma RS, Arambepola NK, Sottas CM, Russell LD, Bunick D, Hess RA, Cooke PS. Increased proliferation of Leydig cells induced by neonatal hypothyroidism in the rat. J. Androl. 1996; 17: 231-238.

[38] Wilson MJ, Kirby JD, Zhao Y, Sinha AA, Cooke PS. Neonatal hypothyroidism alters the pattern of prostatic growth and differentiation, as well as plasminogen activator and metalloprotease expression, in the rat. Biol. Reprod. 1997; 56: 475-482.

[39] Cooke PS, Porcelli J, Hess RA. Induction of increased testis growth and sperm production in adult rats by neonatal administration of the goitrogen propylthiouracil (PTU): the critical period. Biol. Reprod. 1992; 46: 146-154.

[40] Kirby JD, Jetton AE, Cooke PS, Hess RA, Bunick D, Ackland JF, Turek FW, Schwartz NB. Developmental hormonal profiles accompanying the neonatal hypothyroidism-induced increase in adult testicular size and sperm production in the rat. Endocrinology 1992; 131: 559-565.

[41] Porterfield SP. Vulnerability of the developing brain to thyroid abnormalities: environmental insults to the thyroid system. Environ. Health Perspect. 1994; 102 Suppl 2: 125-130.

[42] Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-- current perspectives. Endocr. Rev. 1993; 14: 94-106.

[43] Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A, Visser TJ.

Interactions of persistent environmental organohalogens with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. Toxicology and Industrial Health 1998; 14: 59-84.

[44] Koopman-Esseboom C, Morse DC, Weisglas-Kuperus N, Lutkeschipholt IJ, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, Brouwer A, Sauer PJ. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant women and their infants. Pediatr. Res. 1994; 36: 468-473.

[45] Pluim HJ, de Vijlder JJ, Olie K, Kok JH, Vulsma T, van Tijn DA, van der Slikke JW, Koppe JG. Effects of pre- and postnatal exposure to chlorinated dioxins and furans on human neonatal thyroid hormone concentrations. Environ. Health Perspect. 1993; 101: 504-508.

[46] Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J, O'Heir CE, Mitchell ML, Hermos RJ, Waisbren SE, Faix JD, Klein RZ. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. N. Engl. J. Med. 1999; 341: 549-555.

[47] Hauser P, McMillin JM, Bhatara VS. Resistance to thyroid hormone: implications for neurodevelopmental research on the effects of thyroid hormone disruptors. Toxicology and Industrial Health 1998; 14: 85-101.

[48] Bertelsen JB, Hegedus L. Cigarette smoking and the thyroid. Thyroid 1994; 4: 327-331.

[49] Stoewsand GS. Bioactive organosulfur phytochemicals in Brassica oleracea vegetables-- a review. Food Chem. Toxicol. 1995; 33: 537-543.

[50] Golden RJ, Noller KL, Titus-Ernstoff L, Kaufman RH, Mittendorf R, Stillman R, Reese EA. Environmental endocrine modulators and human health: an assessment of the biological evidence. Crit. Rev. Toxicol. 1998; 28: 109-227.

[51] Guzelian PS. The clinical toxicology of chlordecone as an example of toxicological risk assessment for man. Toxicol. Lett. 1992; 64-65 Spec No: 589-596.

[52] Pesatori AC, Zocchetti C, Guercilena S, Consonni D, Turrini D, Bertazzi PA. Dioxin exposure and non-malignant health effects: a mortality study. Occup. Environ. Med. 1998; 55: 126-131.

[53] Bertazzi PA, Zocchetti C, Guercilena S, Consonni D, Tironi A, Landi MT, Pesatori AC. Dioxin exposure and cancer risk: a 15-year mortality study after the "Seveso accident". Epidemiology 1997; 8: 646-652.

[54] Sauer PJ, Huisman M, Koopman EC, Morse DC, Smits-van PA, van-de-Berg KJ, Tuinstra LG, van-der-Paauw CG, Boersma ER, Weisglas KN, et a. Effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and dioxins on growth and development. Hum. Exp. Toxicol. 1994; 13: 900-906.

[55] Lai TJ, Guo YL, Yu ML, Ko HC, Hsu CC. Cognitive development in Yucheng children. Chemosphere 1994; 29: 2405-2411.

[56] Guo YL, Yu ML, Ryan JJ. Different congeners of PCBs/PCDFs may have contributed to different health outcomes in the Yucheng cohort. Neurotoxicol. Teratol. 1996; 18: 255-256.

[57] Murai K, Okamura K, Tsuji H, Kajiwara E, Watanabe H, Akagi K, Fujishima M. Thyroid function in "yusho" patients exposed to polychlorinated biphenyls (PCB). Environ. Res. 1987; 44: 179-187.

[58] Lonky E, Reihman J, Darvill T, Mather JS, Daly H. Neonatal Behavioral Assessment Scale performance in humans influenced by maternal consumption of environmentally contaminated Lake Ontario fish. Journal of Great. Lakes. Research. 1996. 1996; 22(2):198-212: 198-212.

[59] Jacobson JL, Jacobson SW. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero [see comments]. N. Engl. J. Med. 1996; 335: 783-789.

[60] Jacobson JL, Jacobson SW. Evidence for PCBs as neurodevelopmental toxicants in humans. Neurotoxicology. 1997; 18: 415-424.

[60a] Seegal, R.F. (1999a). Are PCBs the major neurotoxicant in Great Lakes salmon? Environ Res, 80, S38-S45

[60b] Seegal, R.F. (1996). Epidemiological and laboratory evidence of PCB-induced neurotoxicity. Critical Reviews in Toxicology, 26, 709-737.

[61] Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Hoel DG, Anton-Culver H. Medical Hypothesis: Xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. Environ. Health Perspect. 1993; 101: 372-377.

[62] Hoel DG, Davis DL, Miller AB, Sondik EJ, Swerdlow AJ. Trends in cancer mortality in 15 industrialized countries, 1969-1986. J. Natl. Cancer Inst. 1992; 84: 313-320.

[63] Sharpe RM. Declining sperm counts in men--is there an endocrine cause? J. Endocrinol. 1993; 136: 357-360.

[64] Wolff MS. Pesticides--how research has succeeded and failed in informing policy: DDT and the link with breast cancer. Environ. Health Perspect. 1995; 103 Suppl 6: 87-91.

[65] Giwercman A, Skakkebaek NE. The Human Testis - an organ at risk? Int. J. Androl. 1992; 15: 373-375.

[66] Sharpe RM. Environmental estrogens and male infertility. Pure and Applied Chemistry 1998; 70: 1685-1702.

[67] Giwercman A, Carlsen E, Keilding N, Skakkebaek NE. Evidence for increasing incidence of abnormalities of the human testis: A review. Environ. Health Perspect. 1993; 101 (suppl. 2): 65-71.

[68] Carlsen E, Giwercman A, Keilding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Brit. Med. J. 1992; 305: 609-618.

[69] Swan SH, Elkin EP, Fenster L. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. Environ. Health Perspect. 1997; 105: 1228-1232.

[70] Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N. Engl. J. Med. 1995; 332: 281-285.

[71] Sharpe RM. On the importance of being earnest. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. Hum. Exp. Toxicol. 1995; 14: 463-464.

[72] Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. Pediatrics 1997; 100: 831-834.

[73] Jackson MB. The Epidemiology of Cryptorchidism. Horm. Res. 1988; 30: 153-156.

[74] Davis DL, Gottlieb MB, Stampnitzky JR. Reduced ratio of male to female births in several industrial countries: a sentinel health indicator? JAMA 1998; 279: 1018-1023.

[75] Fisch H, Feldshuh J, Goluboff ET, Broder SJ, Olson JH, Barad DH. Semen Analyses in 1 283 Men from The United States over a 25- year Period: No Decline in Quality. Fertil. Steril. 1996; 65(5): 1009-1014.

[76] Paulsen CA, Berman NG, Wang C. Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in

semen quality: further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. Fertil. Steril. 1996; 65(5): 1015-1020.

[77] Bromwich P, Cohen J, Stewart I, Walker A. Decline in sperm counts: an artefact of changing reference range of normal? Brit. Med. J. 1994; 309: 19-22.

[78] Weber RFA, Vreeberg JTM. Bias and confounding in studies of sperm counts. Pure and Applied Chemistry 1998; 70: 1703-1712.

[79] Moller H, Cortes D, Engholm G, Thorup J. Risk of testicular cancer with cryptorchidism and with testicular biopsy: cohort study. BMJ. 1998; 317: 729.

[80] Moller H. Trends in sex-ratio, testicular cancer and male reproductive hazards: are they connected? APMIS 1998; 106: 232-238.

[81] Moller H, Skakkebaek NE. Risk of testicular cancer in subfertile men: case-control study. BMJ. 1999; 318: 559-562.

[82] Prener A, Engholm G, Jensen OM. Genital anomalies and risk for testicular cancer in Danish men. Epidemiology 1996; 7: 14-19.

[83] Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Risk factors for cryptorchidism and hypospadias. J. Urol. 1999; 161: 1606-1609.

[84] Gill WB, Schumacher GF, Bibbo M. Pathological semen and anatomical abnormalities of The genital tract in human male subjects exposed to diethylstilbestrol in utero. J. Urol. 1977; 117: 477-480.

[85] Bullock BC, Newbold RR, McLachlan JA. Lesions of testis and epididymis associated with prenatal diethylstilbestrol exposure. Environ. Health Perspect. 1988; 77: 29-31.

[86] Newbold RR, Bullock BC, McLachlan JA. Testicular tumors in mice exposed in utero to diethylstilbestrol. J. Urol. 1987; 138: 1446-1450.

[87] Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. Environ. Health Perspect. 1998; 106: 793-796.

[88] Garcia-Rodriguez J, Garcia-Martin M, Nogueras-Ocana M, de Dios Luna-del-Castillo J, Espigares Garcia M, Olea N, Lardelli-Claret P. Exposure to pesticides and cryptorchidism: geographical evidence of a possible association. Environ. Health Perspect. 1996; 104: 1090-1095.

[89] Waddell WJ. Evidence Against Environmental Endocrines Influencing Cancer of The Breast, Uterus, Prostate, and Testicle. In: Dunaif GE, Olin SS, Scimeca J, Thomas JA (eds.), Human Diet and Endocrine Modulation: Estrogenic and Androgenic Effects. Washington, D.C.: ILSI Press; 1998: 267-276.

[90] Moller H, Skakkebaek NE. Testicular cancer and cryptorchidism in relation to prenatal factors: case-control studies in Denmark. Cancer Causes. Control. 1997; 8: 904-912.

[91] Feuer EJ, Wun LM. How much of The recent rise in breast cancer incidence can be explained by increases in mammography utilization? A dynamic population model approach. Am. J. Epidemiol. 1992; 136: 1423-1436.

[92] Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in The epidemiology and prevention of breast cancer. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 1988; 24: 29-43.

[93] Henderson BE, Ross RK, Pike MC. Hormonal chemoprevention of cancer in women. Science 1993; 259: 633-638.

[94] Jansen HT, Cooke PS, Porcelli J, Liu TC, Hansen LG. Estrogenic and antiestrogenic actions of PCBs in The female rat: in vitro and in vivo studies. Reproductive Toxicology 1993; 7: 237-248.

[95] Bitman J, Cecil HC. Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. J. Agric. Food Chem. 1970; 18: 1108-1112.

[96] Dewailly E, Dodin S, Verreault R, Ayotte P, Sauve L, Morin J, Brisson J. High organochlorine body burden in women with estrogen receptor- positive breast cancer. J. Natl. Cancer Inst. 1994; 86: 232-234.

[97] Hoyer AP, Grandjean P, Jorgensen T, Brock JW, Hartvig HB. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. Lancet 1998; 352: 1816-1820.

[98] Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelman J, Orentreich N. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and asian women. J. Natl. Cancer Inst. 1994; 86: 589-599.

[99] Safe SH, Zacharewski T. Organochlorine exposure and risk for breast cancer. Prog. Clin. Biol. Res. 1997; 396: 133-145.

[100] Bertazzi PA, Zocchetti C, Guercilena S, Consonni D, Tironi A, Landi MT, Pesatori AC. Dioxin exposure and cancer risk: a 15-year mortality study after The "Seveso accident". Epidemiology. 1997; 8: 646-652.

[101] Ekbom A, Hsieh CC, Lipworth L, Wolk A, Ponten J, Adami HO, Trichopoulos D. Perinatal characteristics in relation to incidence of and mortality from prostate cancer. BMJ 1996; 313: 337-341.

[102] Hsieh CC, Lan SJ, Ekbom A, Petridou E, Adami HO, Trichopoulos D. Twin membership and breast cancer risk. Am. J. Epidemiol. 1992; 136: 1321-1326.

[103] Steinmetz R, Brown NG, Allen DL, Bigsby RM, Ben-Jonathan N. The Environmental Estrogen Bisphenol A Stimulates Prolactin Release in Vitro and in Vivo. Endocrinology 1997; 138: 1780-1876.

[104] Steinmetz R, Mitchner NA, Grant A, Allen DL, Bigsby RM, Ben Jonathan N. The xenoestrogen bisphenol A induces growth, differentiation, and c-fos gene expression in The female reproductive tract. Endocrinology 1998; 139: 2741-2747.

[105] Weinberg RA. One Renegade Cell: How Cancer Begins. New York: Basic; 1999.

[106] Marshall E. Epidemiology. Search for a killer: focus shifts from fat to hormones. Science 1993; 259: 618-621.

[107] Guo YL, Chen YC, Yu ML, Hsu CC. Early development of Yu-Cheng children born seven to twelve years after The Taiwan PCB outbreak. Chemosphere 1994; 29: 2395-2404.

[108] Rogan WJ, Gladen BC. PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. Ann. Epidemiol. 1991; 1: 407-413.

[109] Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, Tinglestad J, Tully M. Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. J. Pediatr. 1986; 109: 335-341.

[110] Kimbrough RD. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: an update. Crit. Rev. Toxicol. 1995; 25: 133-163.

[110a]Longnecker, M.P., Rogan, W.J., & Lucier, G. (1997). The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBS (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. Annual Review of Public Health, 18:211-244.

[110b] Schantz, S.L. (1996). Developmental neurotoxicity of PCBs in humans: what do we know and where do we go from here? Neurotoxicol.Teratol., 18, 217-227.

[111] Jacobson JL, Jacobson SW. Sources and implications of interstudy and interindividual variability in The developmental neurotoxicity of PCBs. Neurotoxicol. Teratol. 1996; 18: 257-264.

[112] Daly HB, Stewart PW, Lunkenheimer L, Sargent D. Maternal consumption of Lake Ontario salmon in rats produces behavioral changes in The offspring. Toxicol. Ind. Health 1998; 14: 25-39.

[113] Tilson HA, Jacobson JL, Rogan WJ. Polychlorinated biphenyls and The developing nervous system: cross-species comparisons. Neurotoxicol. Teratol. 1990; 12: 239-248.

[113a]Brouwer, A., Longnecker, M.P., Birnbaum, L.S., Cogliano, J., Kostyniak, P., Moore, J., Schantz, S., & Winneke, G. (1999). Characterization of potential endocrine-related health effects at low- dose levels of exposure to PCBs. Environmental Health Perspectives, 107, 639-649.

[114] American Council on Science and Health. Endocrine Disrupters: A Scientific Perspective. New York: American Council on Science and Health; 1999. Available at http://www.acsh.org/press/releases/endmod062999.html

[115] Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Council (EDSTAC) Final Report. Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances, US Environmental Protection Agency. Available at: http://www.epa.gov/opptintr/opptendo/finalrpt.html

LA SANTÉ ET L'EXPOSITION DES HUMAINS À DES PRODUITS CHIMIQUES QUI PERTURBENT LA PHYSIOLOGIE DES OESTROGÈNES, DES ANDROGÈNES ET DES HORMONES THYROÏDIENNES

Document de travail préparé pour la :
Table ronde nationale sur l'environnement et l'économie

Préparé par : **Dr Michael Wade**

Division de la toxicologie environnementale et professionnelle
Direction de l'hygiène du milieu, DGPS
Santé Canada

Bureau 315, Centre de l'hygiène du milieu, Pré Tunney, I.A. 0803D
Tél. : 946-5127, Télécopieur : 941-4768

le 2 novembre 1999

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 2

MÉCANISMES D'ACTION 3
- Œstrogènes 3
- Anti-androgènes 6
- Agonistes du récepteur de l'aryl-hydrocarbone 6
- Perturbateurs des hormones thyroïdiennes 7

DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES 8

EFFETS SUR LA SANTÉ DES POPULATIONS HUMAINES 9
- Effets sur l'appareil reproducteur masculin 9
- Cancer du sein 10
- Effets neurodéveloppementaux 11

CONCLUSIONS : 12

REMERCIEMENTS 13

ANNEXE 1 : ACTIVITÉS DE SANTÉ CANADA 14

LISTE DES RÉFÉRENCES 13

INTRODUCTION

Depuis quelques années, on s'inquiète beaucoup des effets néfastes sur la santé des populations humaines et fauniques des produits chimiques qui peuvent perturber le contrôle hormonal de la croissance, du développement et de la reproduction [1-3]. Ces préoccupations ont été suscitées par les anomalies observées dans la reproduction et le développement de populations animales exposées à des concentrations modérées ou élevées de polluants persistants, les conséquences pour la santé des populations humaines exposées accidentellement à des concentrations élevées de ces substances ou exposées *in utero* à des œstrogènes pharmaceutiques et des tendances observées dans les maladies des tissus sous contrôle endocrinien (incidence accrue des malformations congénitales de l'appareil reproducteur masculin et des cancers du sein, des testicules, de la prostate et de la glande thyroïde). En outre, des études de laboratoire réalisées sur des animaux ont révélé que de faibles expositions pendant les périodes intra-utérine et néonatale à des polluants persistants omniprésents provoquent des effets indésirables subtils à long terme sur les fonctions reproductrice et neurale. Certains chercheurs ont synthétisé ces observations disparates en une hypothèse selon laquelle l'exposition à des concentrations traces de produits chimiques anthropiques a eu des effets indésirables marqués sur la reproduction, l'immunité et l'intelligence de la population humaine dans l'ensemble des pays industrialisés. Avec la publication de l'ouvrage intitulé « Our Stolen Future », financé par la Fédération mondiale de la faune [4], cette hypothèse est devenue une importante question d'intérêt public. S'il est vrai que cette hypothèse repose uniquement sur des preuves indirectes, le public et les groupes écologistes pressent de plus en plus les gouvernements du monde entier d'intervenir sans tarder et d'imposer des contrôles rigoureux sur tous les composés qui agissent sur les systèmes endocriniens.

Bien que les données montrant l'existence d'un lien entre certains effets indésirables et une forte exposition à des substances qui perturbent les systèmes endocriniens dans certaines populations humaines et animales soient probantes, le lien présumé avec les effets sur les systèmes endocriniens des populations humaines est moins clair. Dans cet article, je décrirai brièvement les quatre classes de substances perturbatrices du système endocrinien d'origine environnementale le plus souvent inculpées, à savoir les œstrogènes, les anti-androgènes, les perturbateurs des hormones thyroïdiennes et les agonistes des récepteurs d'aryl-hydrocarbone. En outre, je discuterai de l'hypothèse selon laquelle les tendances de la maladie dans les populations humaines en Occident peuvent être influencées par les substances chimiques anthropiques perturbatrices du système endocrinien.

MÉCANISMES D'ACTION

Les organismes multicellulaires disposent en général de deux mécanismes de coordination des activités des tissus et des organes dans le corps, à savoir les communications nerveuse et endocrine. La première est assurée par le transport rapide de signaux électrochimiques à travers un réseau de cellules nerveuses hautement modifiées et sert généralement à coordonner des événement rapides et très brefs (de quelques minutes à quelques secondes ou moins). La communication endocrine s'effectue par le transfert de signaux chimiques (hormones) transmis par des cellules sécrétoires à des cellules-cibles à travers la circulation générale. La communication endocrine coordonne généralement les événements sur des périodes beaucoup plus longues (de quelques minutes à quelques semaines ou quelques mois). Les cellules-cibles reçoivent un signal hormonal grâce à une interaction hormonale avec des récepteurs hautement spécifiques et la production d'un signal intracellulaire qui modifie la fonction cellulaire. Les récepteurs hormonaux lient leurs hormones-cibles avec une si grande affinité que les concentrations physiologiquement importantes d'hormones sont habituellement infinitésimales et que des fluctuations très subtiles des concentrations circulantes ont des répercussions considérables sur la réponse des cellules-cibles.

La croissance, le développement et la maturation coordonnées des organismes animaux résulte d'une interaction complexe de signaux hormonaux dont la chronologie et la dose peuvent avoir des conséquences permanentes pour la forme et la fonction futures de nombreux tissus. Si les composés ayant une action hormonale peuvent modifier la fonction reproductrice chez des organismes arrivés à maturité sexuelle, ces effets ne se manifestent qu'à des doses élevées et disparaissent généralement lorsque cesse l'exposition à la substance active. En revanche, l'exposition à des doses beaucoup plus faibles pendant des périodes critiques, par exemple au moment de la différenciation cellulaire, peut modifier le processus de développement de ces tissus, ce qui peut se traduire par des changements permanents dans la physiologie des tissus chez les animaux adultes. Pendant leur développement, les tissus reproducteurs et nerveux, en particulier, sont très sensibles à l'action des hormones stéroïdes sexuelles et des hormones thyroïdiennes, respectivement. Étant donné qu'il s'agit d'hormones dont l'action et le métabolisme peuvent être influencés par divers produits chimiques, l'exposition à ces produits chimiques pendant le développement peut avoir des effets sur la structure et la fonction de l'appareil reproducteur et du système nerveux central à l'âge adulte. Toute toxine qui peut influer sur la production, la sécrétion, le transport plasmatique, l'action ou la clairance métabolique de ces hormones peut éventuellement avoir des effets indésirables. Les quatre mécanismes de perturbation hormonale les mieux démontrés et les plus étudiés sont : 1) l'activation des récepteurs œstrogéniques, 2) l'inhibition des récepteurs des androgéniques, 3) l'activation des récepteurs de l'aryl- hydrocarbone et 4) l'altération de la sécrétion, du transport et du métabolisme des hormones thyroïdiennes.

Œstrogènes

Des produits chimiques structurellement différents ont une action analogue à celle de l'hormone endogène œstradiol en ce sens qu'ils peuvent se lier au récepteur œstrogénique (RE) et

l'activer [5]. Le RE fait partie d'un groupe de facteurs d'activation de la transcription de l'ADN activés par ligand, y compris les récepteurs d'autres hormones comme l'androgène, la progestérone, les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes, les hormones thyroïdiennes et les rétinoïdes, qui interviennent directement dans la régulation de l'expression génique [6]. Les produits chimiques reconnus comme activateurs des RE englobent les pesticides, dont certains sont dérèglementés (*o,p'DDT*, chlordécone) et certains sont encore en usage au Canada (méthoxychlore), les métabolites des congénères des BPC, des produits chimiques commerciaux utilisés dans toute une gamme d'applications industrielles et domestiques (bisphénol A, alkylphénols) et une variété de produits végétaux ou fongiques naturels qu'on retrouve dans l'alimentation humaine (génistéine, daidzéine, coumestans, etc). La capacité d'activer les RE de chacun des composés énumérés précédemment est bien inférieure à celle de l'œstradiol; en effet, elle s'échelonne de 10^{-1} à 10^{-4} dans le cas du génistéine et du coumestans (selon le système de détermination de l'œstrogénicité utilisé) à 10^{-5} à 10^{-7} pour le méthoxychlore [7, 8]. Nombre de ces composés sont capables de perturber la fonction reproductrice chez les rongeurs adultes et peuvent provoquer des altérations structurales et fonctionnelles permanentes de l'appareil reproducteur des ratons nés de mères exposées pendant la grossesse [9].

La sensibilité des humains aux effets tératogènes des œstrogènes est démontrée par les conséquences cliniques de l'exposition des femmes pendant la grossesse à un œstrogène pharmacologique, le diéthylstilbestrol (DES : [10] et références dans cet article). À compter du début des années 40, le DES a été prescrit à plusieurs milliers de femmes enceintes parce qu'on croyait, à tort, qu'il préviendrait les fausses couches. Si le produit a eu peu d'effets chez la mère, ses effets délétères sur la fœtus ne sont devenus apparents qu'au début des années 70, quand on a découvert que les jeunes femmes qui avaient été exposées *in utero* couraient un risque beaucoup plus élevé que les autres femmes de développer une forme rare de cancer du vagin. L'exposition du fœtus au DES a également été liée à toute une gamme d'anomalies structurales et fonctionnelles de l'appareil reproducteur et du système immunitaire chez les deux sexes et, comme dans le cas du cancer du vagin, ces effets ne se manifestent que bien des années après l'exposition. Outre ces effets chez l'humain, le DES a de nombreux effets tératogènes sur l'appareil reproducteur de rongeurs [11]. Ces observations ainsi que l'expérience clinique avec le DES montrent bien que les œstrogènes ont une fonction morphogène pendant le développement en plus d'agir comme régulateurs cellulaires chez les animaux adules.

S'il est vrai que des expositions à de fortes concentrations d'œstrogènes, comme les doses pharmacologiques de DES, peuvent avoir des effets cliniques significatifs, des études réalisées chez le rat semblent indiquer que des doses faibles peuvent avoir des effets indésirables subtils qui ne provoqueraient pas nécessairement des pathologies caractérisées. Des études ont démontré que chez des animaux qui ont des portées, le sexe des fœtus adjacents dans l'utérus, et donc les taux d'hormones stéroïdes diffusant des voisins utérins les plus proches, peut influer sur le développement de l'appareil reproducteur et du cerveau [12]. Ce qu'il est convenu d'appeler l'effet de la position utérine peut faire en sorte que des souris mâles qui se développent entre deux fœtus femelles (0M) ont une prostate beaucoup plus volumineuse, plus de récepteurs androgéniques, une plus forte production de spermatozoïdes en plus d'être plus agressifs que les autres mâles de la portée qui se sont développés entre deux mâles (2M) [12]. On peut également percevoir des effets chez les souris femelles; en effet, les femelles 0M ont un cycle œstral plus

court, un plus grand succès reproducteur et sont moins agressives que les femelles 2M de la même portée. Cet effet est attribuable au fait que les fœtus 0M ont une exposition légèrement supérieure à l'œstradiol qui diffuse des fœtus femelles adjacents. Ces effets ont également été observés chez tous les souriceaux mâles de mères ayant reçu de faibles doses d'œstrogènes, dont l'œstradiol et le DES [13], le bisphénol A [14, 15] et le méthoxychlore [16, 17]. Ces études donnent également à entendre qu'il n'y a pas de relation dose-effet standard pour ce qui est des effets toxicologiques d'une exposition prénatale aux œstrogènes, contrairement aux effets des autres substances pour lesquelles il existe un seuil de toxicité. Par exemple, une courbe dose-réponse montrant la taille de la prostate chez les souris adultes en fonction de la dose de DES reçue *in utero* montre une augmentation initiale de la taille avec l'augmentation de la dose suivie d'une diminution jusqu'à ce que, à la dose la plus forte, les prostates soient beaucoup plus petites que celles des souris témoins comparables [13]. Les changements qualitatifs de la réponse et la présence de 2 « seuils » potentiels (c'est-à-dire les doses auxquelles la taille de la prostate est comparable à celle des témoins) portent à croire que les outils d'évaluation du risque utilisés pour calculer les niveaux d'exposition sûrs, qui supposent que la réponse ne peut avoir qu'une seule direction qualitative (c'est-à-dire une augmentation de l'ampleur de la réponse avec l'augmentation de la dose au-delà d'une dose active minimale) sont inadéquats pour les produits chimiques œstrogéniques [13]. Il importe de mentionner que la relation dose-réponse en U inversé des substances œstrogéniques sur le poids de la prostate qui a été décrite ci-dessus n'a pas été observée par plusieurs autres laboratoires qui ont testé ces mêmes composés dans des conditions apparemment identiques [18, 19 entre autres].

Les opposants à la thèse selon laquelle les composés œstrogéniques industriels et agricoles perturbent la développement reproducteur ont répondu que l'activité œstrogénique totale de l'ensemble des produits chimiques anthropiques connus auxquels la population est exposée est infime comparativement à l'activité œstrogénique totale consommée [20]. En effet, l'apport alimentaire provenant des composés végétaux et fongiques naturels ayant une activité œstrogénique est énorme, car des composés actifs sont présents dans une vaste gamme de produits alimentaires [21]. Les effets sur la santé de l'exposition aux phytoestrogènes est un domaine de recherche en rapide évolution et de nombreux effets, tant bénéfiques que néfastes, ont déjà été démontrés [21, 22]. Cependant, les effets de toute substance œstrogénique sur la réponse tissulaire et, partant, ses répercussions sur la santé, sont la conséquence de la quantité de matériel qui parvient aux organes-cibles (dose tissulaire) ainsi que de son pouvoir œstrogénique. Aussi, la dose tissulaire est-elle tributaire de la rapidité avec laquelle la substance est métabolisée et excrétée par l'organisme et du degré d'adhérence du matériel aux protéines sanguines, pour ne nommer que deux caractéristiques. La différence dans ces deux caractéristiques entre les estrogènes environnementaux persistants et la majorité des œstrogènes d'origine végétale montre bien que le pouvoir œstrogénique seul ne permet pas de prédire la réponse de l'animal à l'exposition. Les phytoestrogènes sont généralement liés plus étroitement aux protéines sériques, c'est pourquoi ils sont moins bien assimilables et agissent moins sur les tissus que certains produits chimiques œstrogéniques anthropiques [22a]. En outre, les « œstrogènes » d'origine végétale interviennent également dans une grande variété de processus cellulaires à des niveaux de doses à peu près égaux [21], ce qui donne à penser que les effets bénéfiques des phytoestrogènes ne seraient peut-être pas imputables à leur action œstrogénique. Pour compliquer davantage les choses, il est

de plus en plus clair que les réponses aux produits chimiques « œstrogéniques » sont spécifiques aux tissus et au stade de développement, de sorte qu'il est impossible de prédire les effets de l'exposition *in utero* à un composé capable d'activer le récepteur des œstrogènes [7, 23].

Anti-androgènes

Dernièrement, on a découvert qu'un certain nombre de composés, dont la vinclozoline, un fongicide largement utilisé [24, 25] et les contaminants de l'environnement très répandus comme le DDE, un métabolite du DDT, [26] et le Tris-(4-chlorophényl) méthanol [27] inhibent l'interaction du récepteur androgénique avec ses ligands endogènes, la 5α-dihydrotestostérone et la testostérone. Comme c'est le cas pour l'exposition aux œstrogènes environnementaux, les anti-androgènes ont les effets les plus marqués pendant les périodes critiques du développement et de l'imprégnation hormonale des organes reproducteurs, mais sont relativement non toxiques chez les animaux adultes [3, 28, 29]. Cependant, les trois anti-androgènes environnementaux identifiés sont peu puissants et exigent des expositions très fortes pour provoquer des effets indésirables sur le développement sexuel d'animaux mâles. De ceux-ci, c'est le DDE qui présente la plus grand risque car, dans les endroits où le DDT est encore largement utilisé pour la démoustication, les expositions humaines approchent des niveaux qui provoquent des effets sur les tissus reproducteurs chez le rat [26].

Agonistes du récepteur de l'aryl-hydrocarbone

Le récepteur de l'aryl-hydrocarbone (AhR) est un récepteur nucléaire activé par ligand pour lequel aucun ligand endogène connu n'a été trouvé [30]. On croit qu'il déclenche un mécanisme de défense contre des toxines organiques ingérées car il est activé par une grande variété de composés polyaromatiques. L'activation du AhR cause une restriction de la fonction cellulaire normale et l'induction d'enzymes qui peuvent dégrader un vaste éventail de petites molécules organiques. Pour un ligand AhR « naturel » comme l'indole-3-carbinol (présent à un concentration modérée dans le brocoli et d'autres légumes crucifères) l'induction de ces enzymes entraîne le métabolisme et l'excrétion rapide du ligand. À mesure que survient la clairance métabolique du ligand, le signal diminue et l'activité cellulaire se normalise. Les activateurs les plus puissants du AhR sont les dioxines et les furanes, des contaminants organochlorés hautement persistants, qui sont des sous-produits de toute une gamme d'activités humaines, dont l'incinération des déchets, la fusion des métaux, la combustion du charbon ou du diesel et la chloration de la pâte à papier. L'activation du AhR par ces ligands persistants entraîne la même baisse des fonctions cellulaires normales et la synthèse d'enzymes de détoxification. Toutefois, étant donné que les dioxines et les furanes sont hautement résistants à l'action de ces mécanismes de défense cellulaire, ils restent à l'état non métabolisé, et le signal AhR continue et les activités cellulaires normales restent supprimées. Les conséquences en sont surtout apparentes lorsque ce phénomène se produit pendant le développement intra-utérin. Il a été démontré que l'exposition de fœtus de rats mâles à de très faibles concentrations de dioxine entraîne des effets subtils à long terme sur la structure [31] et la fonction [32-34] de divers organes reproducteurs et provoque une altération du comportement reproducteur [33] chez les rats mâles. Des effets semblables ont

également été observés chez des rats mâles exposés à l'indole-3-carbinol, un agoniste naturel du AhR d'origine alimentaire, bien que les doses aient été plus fortes, ce qui donne à penser que même une activation transitoire de ce système de signalisation peut perturber le développement reproducteur [35].

Perturbateurs des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes jouent un rôle déterminant dans la différenciation de presque tous les tissus du fœtus et du jeune en pleine croissance, ainsi que dans la régulation du métabolisme énergétique de l'adulte. Toute une gamme de substances, à la fois anthropiques et naturelles, sont capables de provoquer une baisse des taux d'hormones thyroïdiennes circulantes par divers mécanismes qui ne seront pas discutés ici. Les effets de la perturbation des hormones thyroïdiennes pendant le développement peuvent être observés dans divers appareils et systèmes de l'organisme, mais ce sont les effets reproducteurs et neurodéveloppementaux qui sont les plus importants [36]. Une perturbation extrême peut avoir une influence sur le développement de l'appareil reproducteur du mâle [37-39] et sur la régulation endocrinienne subséquente de la reproduction [40]. Notons cependant que le système nerveux central en développement est beaucoup plus sensible aux baisses des taux d'hormones thyroïdiennes [41, 42]. Il a été établi que les BPC et plusieurs autres organochlorés persistants sont capables de faire baisser les taux d'hormones thyroïdiennes circulantes chez des animaux de laboratoire [43] et ils ont été corrélés à une baisse [44] ou une élévation [45] des hormones thyroïdiennes circulantes. Étant donné que les perturbations des taux d'hormones thyroïdiennes *in utero* et après la naissance entraînent une déficience cognitive chronique chez les enfants [46, 47], l'exposition à des substances qui perturbent la physiologie des hormones thyroïdiennes pendant la grossesse peut nuire au développement neurologique. Cependant, on ne connaît pas encore l'ampleur des perturbations requises pour entraîner ces troubles neurologiques du développement non plus que les périodes les plus sensibles du développement. En outre, la population du Canada est exposée à toute une variété d'autres composés dans leur alimentation ou dans la fumée de tabac en plus des contaminants persistants de l'environnement qui peuvent tous faire chuter les taux d'hormones thyroïdiennes circulantes [48, 49]; les effets de ceux-ci sur le développement neurologique ne sont pas clairs.

DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES :

Les substances perturbatrices du système endocrinien ont-elles des effets néfastes chez l'homme?

Les données concernant les effets des substances perturbatrices du système endocrinien proviennent de cas spécifiques où des personnes ont été exposées par inadvertance à de fortes doses de ces agents par suite d'accidents industriels, de la contamination d'aliments ou, dans le cas du DES, à l'administration de doses pharmacologiques du produit pendant des périodes critiques du développement. Les meilleurs exemples de ces effets sont présentés au tableau 1. Dans la plupart des cas, les conséquences de l'exposition chez les humains sont semblables à celles qui ont été observées dans les modèles animaux.

Tableau 1 : Effets de l'exposition humaine à des doses modérées de substances perturbatrices connues du système endocrinien.

Agent administré	Mécanisme	Effets	Réf.
DES	Activation des récepteurs œstrogéniques	L'exposition prénatale cause le cancer du vagin, des malformations de l'utérus et la stérilité chez la femme, et une production réduite de spermatozoïdes, un hypospadias et une cryptorchidie chez les hommes.	[50], [10] et références dans des articles
Chlordécone	Activation présumée des récepteurs œstrogéniques	L'exposition professionnelle des hommes cause l'azoospermie et la stérilité.	[51]
Dioxine	Activation des récepteurs de l'aryl-hydrocarbone	Chez les adultes, l'exposition entraîne une acné chlorique; un risque accru de maladies cardiovasculaires; un risque accru de cancers de la glande thyroïde, des tissus mous et de leucémie; un risque inférieur de cancer du sein. Chez le fœtus, l'exposition cause l'avortement spontané, des malformations congénitales, une mauvaise dentition. On a noté une corrélation négative entre les taux de dioxine sérique chez la mère et le nouveau-né et les taux d'hormones thyroïdienne.	[44, 52-54]
BPC et dibenzofuranes	AhR, clairance métabolique accrue d'hormones thyroïdiennes, de stéroïdes sexuels, autres	Chez les adultes, l'exposition provoque des changements du bilan thyroïdien et des lésions cutanées; chez le fœtus, l'exposition entraîne des troubles neurodéveloppementaux, des déficits immunitaires, des déficiences auditives, des malformations génitales.	[55-57]
Consommation de poisson contaminé (BPC, métaux lourds, DDE)	AhR, modification du métabolisme hormonal, non AhR - altérations neurochimiques dans le cerveau	Déficiences cognitives, retards de développement neural, hypotrophie à la naissance et petite taille des enfants de mères qui ont consommé du poisson contaminé des Grands Lacs pendant la grossesse. Cycles menstruels plus courts chez les femmes qui consomment du poisson contaminé des Grands Lacs.	[58-60, 60a, b]

EFFETS SUR LA SANTÉ DES POPULATIONS HUMAINES
Sont-ils attribuables aux substances perturbatrices du système endocrinien (SPSE)?

Les augmentations de l'incidence des cancers des organes reproducteurs et les baisses observées dans les autres indicateurs de la santé génésique des populations humaines dans les pays industrialisés sont souvent utilisées pour démontrer que les expositions massives de l'ensemble de la population à des substances œstrogéniques, anti-androgéniques et à des substances perturbatrices du système endocrinien ayant d'autres mécanismes d'action ont eu des effets indésirables sur la santé humaine [3, 61-63]. En particulier, les augmentations de l'incidence des cancers du sein et des testicules en Europe et en Amérique du Nord, qui ne peuvent être expliquées complètement par l'amélioration des techniques diagnostiques, sont les cas le plus souvent cités [61, 64, 65]. Les arguments selon lesquels ces tendances pourraient être attribuables à des produits chimiques industriels et agricoles sont fondés uniquement sur le fait que ces tendances coïncident sommairement avec l'utilisation et la libération croissantes de ces produits chimiques dans l'environnement de même que sur les mécanismes d'action plausibles. Toutefois, jusqu'ici, il n'y a pas de données probantes qui montrent que ces tendances sont associées à l'exposition à des agents chimiques industriels spécifiques, que ceux-ci aient ou non un effet perturbateur sur le système endocrinien.

Effets sur l'appareil reproducteur masculin

Richard Sharpe, Niels Skaakabek et leurs collègues ont mis de l'avant des arguments selon lesquels les SPSE ont une influence sur la santé génésique des hommes. Ils soutiennent que l'exposition prénatale à des produits chimiques a provoqué des effets indésirables sur l'appareil reproducteur des hommes dans tous les pays industrialisés [65-67]. Des données attestant de la baisse de la santé génésique des hommes dans les pays industrialisés proviennent d'études selon lesquelles on observerait à l'échelle mondiale [68, 69] et régionale [70, 71] une baisse de la qualité du sperme, une hausse de l'incidence de la cryptorchidie et de l'hypospadias (malformations congénitales de l'appareil reproducteur masculin) [72, 73] et une diminution des naissances de sexe masculin par rapport au sexe féminin [74]. L'existence d'une baisse historique de la qualité du sperme et du nombre de spermatozoïdes a été vivement contestée [75-77], étant donné qu'il est difficile de faire des comparaisons entre les études en raison des importantes différences méthodologiques dans le sélection des sujets et l'analyse des échantillons [78]. Quoi qu'il en soit, Sharpe soutient [66] que les associations épidémiologiques étroites entre le cancer des testicules, le nombre réduit de spermatozoïdes, la cryptorchidie et l'hypospadias chez les bébés et une probabilité réduite d'avoir un enfant de sexe masculin évoquent l'existence d'une cause commune à ces tendances [79-83]. La découverte du fait que certains composés très répandus (p. ex. le DDT) avaient une activité hormonale a été utilisée pour étayer l'hypothèse selon laquelle ces effets étaient dus à l'exposition aux œstrogènes pendant le développement. Cette hypothèse reposait sur des données montrant que chez les hommes exposés au DES *in utero*, on observait une incidence accrue de cryptorchidie et d'hypospadias pendant la petite enfance et un nombre réduit de spermatozoïdes à l'âge adulte [10, 84], bien qu'on n'ait noté aucun changement dans le risque de cancer des testicules [50] par rapport à des hommes comparables

non exposés. En outre, des études animales sur la régulation de la croissance testiculaire démontrent clairement que l'exposition prénatale et néonatale aux œstrogènes entraîne une réduction de la production de spermatozoïdes, une modification du développement des testicules et de l'appareil reproducteur et une incidence accrue du cancer des testicules [85, 86]. On dispose également de preuves épidémiologiques selon lesquelles la cryptorchidie [87, 88] serait plus fréquente chez les fils de mères exposées de par leur travail à des pesticides, dont certains ont une activité œstrogénique ou anti-androgénique (aucune de ces expositions n'a été quantifiée). Bien qu'aucun agent chimique spécifique n'ait été mis en cause comme agent œstrogénique ou anti-androgénique responsable des effets indésirables chez l'homme, quatre catégories d'exposition ont été proposées [66] : 1) de l'eau provenant de systèmes d'alimentation municipaux qui serait contaminée par des œstrogènes synthétiques provenant de l'urine des femmes recevant des œstrogènes thérapeutiques persistantes (anovulants ou œstrogénothérapie substitutive); 2) des hormones utilisées comme facteurs de croissance en zootechnie (œstrogènes, DES); 3) le contenu de l'alimentation en phytoestrogènes naturels et 4) l'exposition à des résidus chimiques industriels et agricoles ou à leurs métabolites, surtout les polluants organiques persistants (POP). De ceux-ci, les phytoestrogènes représentent probablement la plus importante source d'exposition alors que les expositions aux produits chimiques industriels et agricoles représentent une source d'œstrogénicité beaucoup plus faible [20]. L'activité œstrogénique totale de cette dernière classe n'est pas pleinement connue étant donné que l'activité œstrogénique de la grande majorité des produits chimiques commerciaux a été très peu étudiée. L'absence de corrélation entre les incidences les plus élevées de cancer des testicules et les régions où l'on pourrait s'attendre à avoir les plus fortes expositions historiques aux polluants organiques persistants (dioxines, BPC) fait penser que l'exposition aux POP n'est pas responsable de cette tendance [89]. Les autres facteurs qui pourraient expliquer cette tendance englobent un âge maternel et paternel plus avancé lors de la naissance, facteurs qui ont été liés au risque de cryptorchidie et de cancer des testicules [90] et l'exposition *in utero* à d'autres agents non identifiés qui perturbent le développement de l'appareil reproducteur [80].

Cancer du sein

Les données à l'appui d'un lien causal entre une incidence accrue du cancer du sein et l'exposition à des substances perturbatrices du système endocrinien sont également limitées. L'incidence du cancer du sein et le taux de mortalité associé à cette maladie ont augmenté constamment entre les années 1940 et aujourd'hui dans de nombreux pays industrialisés [62, 91]. L'exposition aux œstrogènes, qu'ils soient endogènes (œstradiol) ou de source pharmacologique (œstrogénothérapie substitutive) entraîne un risque accru de cancer du sein [92] vraisemblablement en raison de l'action proliférative des œstrogènes sur les tissus mammaires [93]. S'il est vrai qu'il existe de nombreux autres facteurs de risque de cancer du sein, certains chercheurs prétendent que ceux-ci ne peuvent expliquer qu'entre 30 % et 50 % de l'augmentation observée de l'incidence du cancer du sein et de la mortalité qui y est associée [61]. Il a été démontré que plusieurs composés organochlorés (BPC, DDT), qui ont été largement répandus dans l'environnement dans les pays industrialisés entre les années 40 et les années 70, agissent comme des œstrogènes faibles [94, 95]. Il a été proposé que ces composés, qui sont à la fois

persistants et fortement lipophiles, s'accumuleraient dans les tissus adipeux des seins et contribueraient à la formation des tumeurs [64]. Le lien épidémiologique entre l'exposition au DDT, aux BPC et aux autres organochlorés a maintenant été largement étudié et l'on a trouvé peu de données à l'appui d'un lien causal. Plusieurs études d'envergure restreinte ont mis en évidence des niveaux accrus de certains contaminants organochlorés spécifiques (métabolites du DDT, BPC et autres). Les composés mis en cause différaient entre les études qui montraient des corrélations positives alors que des études de plus grande envergure ayant une plus grande efficacité statistique n'ont mis en lumière aucune relation ([96-99] et de nombreux autres). D'autres données épidémiologiques semblent indiquer que l'exposition à la dioxine, un agoniste du AhR ayant une activité anti-œstrogénique, et aux œstrogènes alimentaires, comme certains phytoestrogènes, pourraient contribuer à prévenir la cancer du sein, ce qui évoque la possibilité que la modulation de cette voie hormonale par des facteurs alimentaires pourrait influer sur l'évolution de cette maladie [22, 100]. Outre l'exposition à l'âge adulte, l'exposition prénatale à de faibles quantités de substances œstrogéniques exogènes pourrait prédisposer les femmes au cancer du sein. Cette possibilité est évoquée par des études épidémiologiques montrant que les femmes nées de mères atteintes de pré-éclampsie, un état qui se caractérise par une carence en œstrogènes pendant la grossesse, ou encore les femmes qui faisaient partie d'un couple de jumeaux dizygotes, et donc qui ont été exposées à de plus forts taux d'œstrogènes endogènes, ont des risques de cancer du sein qui sont soit plus faibles, soit plus élevés, respectivement, que les femmes issues de grossesses normales [101, 102]. On ne sait pas au juste dans quelle mesure les autres produits chimiques non persistants ayant une activité œstrogénique, comme le bisphénol A et le nonylphénol, contribuent à l'incidence du cancer du sein [103, 104] mais, comme on estime que les expositions totales aux œstrogènes anthropiques sont bien inférieures aux expositions aux œstrogènes endogènes, leur contribution à la genèse du cancer du sein est probablement négligeable.

Un autre facteur qui pourrait expliquer l'augmentation de l'incidence du cancer du sein serait que le risque accru attribuable à l'interaction de facteurs de risque reconnus a été sous-estimé. La tendance observée chez les femmes à retarder la grossesse, à avoir moins d'enfants et à allaiter leurs enfants pendant de plus courtes périodes, en plus d'une apparition précoce des premières règles et d'une ménopause plus tardive par rapport aux générations antérieures, sont tous des facteurs qui exposent les femmes à un plus grand nombre de décharges d'œstrogènes liées à leur cycle menstruel. On estime qu'en 1990, les tissus mammaires de la femme moyenne de 25 ans avait subi plus de proliférations induites par l'œstrogène que ceux de sa grand-mère à la ménopause [105, 106]. Étant donné qu'un plus grand nombre de cycles prolifératifs signifie qu'un agent cancérigène a plus de possibilités d'agir et qu'il y a une plus grande probabilité de promotion d'une cellule transformée en tumeur, il y aura donc un risque accru de cancer.

Effets neurodéveloppementaux

D'autres preuves que les contaminants de l'environnement pourraient avoir eu un effet néfaste sur la santé humaine nous viennent d'études qui affirment que l'exposition aux BPC, ou à d'autres contaminants anthropiques, *in utero* peut avoir des effets indésirables sur le

développement cognitif. C'est là la conclusion de plusieurs études dans lesquelles on a établi une corrélation inverse entre les taux de BPC et de DDT dans les tissus maternels et la performance du bébé ou de l'enfant à des échelles conçues pour évaluer le développement neurologique, les capacités cognitives ou la motricité [107-109]. En outre, les déficits neurodéveloppementaux et cognitifs observés chez les enfants dont la mère avait consommé du poisson contaminé des Grands Lacs donnent à penser que ces effets persistent pendant toute l'enfance et même pendant l'adolescence [58-60]. Ces études laissent également entendre que les niveaux d'exposition aux BPC qui étaient corrélés à des effets importants se situaient à la limite supérieure de ce qui était considéré comme des niveaux de référence, ce qui permet de supposer qu'il y aurait déjà des effets dans la population [110]. Il importe de noter que dans la plupart des études, les déficits signalés ne sont pas considérables et que les résultats obtenus par les enfants exposés aux BPC sont jugés cliniquement acceptables. Parmi les déficits observés, mentionnons les modifications de l'attention, de la mémoire, de l'accoutumance et du processus cognitif [59, 110a]. L'interprétation de ces résultats a été critiquée pour des raisons d'ordre méthodologique, notamment on a remis en question la validité et la fiabilité des tests psychométriques ainsi que la fiabilité et la sensibilité des méthodes analytiques de mesure des BPC, et l'on a noté que les chercheurs n'avaient pas tenu compte des variables de confusion appropriées et n'avaient pas mesuré les expositions concomitantes à d'autres substances neurotoxiques [110b, 111]. Il reste cependant que les observations d'une neurotoxicité induite par les BPC chez les humains sont corroborées par des études démontrant une baisse de la performance aux tests d'apprentissage et de mémoire chez les rats ou les singes exposés aux BPC [60b, 110b, 112, 113, 113a]. Les déficits neurodéveloppementaux chez les animaux ont été observés systématiquement dans les études avec des doses qui sont plus élevées que les expositions humaines équivalentes et certains de ces déficits sont comparables aux déficits neurodéveloppementaux signalés chez les humains. Bien que les altérations de la fonction endocrinienne induites par les substances perturbatrices du système endocrinien interviennent probablement dans l'évolution de ces déficits neurodéveloppementaux, il est plus que probable que la fonction endocrinienne altérée module les effets des contaminants sur d'autres systèmes neurochimiques qui sont plus directement responsables des troubles neurocomportementaux.

CONCLUSIONS :

S'il est vrai qu'on dispose de peu de preuves concluantes que les substances perturbatrices du système endocrinien ont eu des effets néfastes répandus sur la santé humaine, il reste que les données actuelles ne tendent pas à réfuter cette hypothèse. Contrairement à ce qu'on a observé dans le cas du DES, où des doses élevées du produit ont entraîné une augmentation de l'incidence d'une forme rare de cancer, les effets subtils qui découleraient d'une exposition à de faibles doses de composés agissant sur la physiologie des hormones reproductrices ou des hormones thyroïdiennes ne provoqueraient probablement pas de changements marqués de l'incidence de pathologies cliniques caractérisées. Aussi, les mécanismes par lesquels les produits chimiques anthropiques entraîneraient des effets néfastes sur la santé sont les mêmes que ceux qui interviennent dans le cas de divers composés naturels qui font normalement partie de notre

alimentation. L'exposition à des composés naturels, comme la génistéine dans les produits de soja [22], l'agoniste du AhR indole-3-carbinol et les glucosinolates perturbateurs de la thyroïde [49, 99], tous deux présents dans les légumes crucifères, représente une activité endocrinienne potentielle beaucoup plus importante que les niveaux de fond des composés anthropiques actifs. Or, on lie la consommation de ces légumes à des effets bénéfiques sur la santé, notamment une réduction de l'incidence de certains cancers hormonodépendants [20, 49], bien que certains effets négatifs sur la reproduction aient également été signalés [21, 22]. À cela vient s'ajouter le fait qu'on s'aperçoit de plus en plus que les xénœstrogènes et les autres composés qui exercent une activité hormonale peuvent avoir un effet spécifique selon le tissu ou le stade de développement, effet qui ne peut être prévu seulement d'après l'affinité pour les récepteurs (c'est-à-dire qu'un composé qui active l'expression d'un gène médiée par un récepteur dans certaines conditions pourrait inhiber la même réponse dans d'autres conditions [23]).

Aussi, y a-t-il lieu de poursuivre la recherche fondamentale en laboratoire et les études épidémiologiques afin de déterminer l'ampleur réelle des répercussions sur la santé de l'exposition à des produits chimiques anthropiques. Cette conclusion a été réitérée lors de plusieurs évaluations récentes réalisées par des organisations prestigieuses, comme l'agence de protection environnementale des États-Unis (US EPA) [114], la National Academy of Science des États-Unis [2], la Commission européenne [1] et le American Council on Science and Health [114]. Étant donné le manque de connaissances scientifiques sur rôle des perturbations endocriniennes pendant le développement, dans l'étiologie de la maladie, de l'ampleur des effets éventuels des substances toxiques agissant sur les systèmes endocriniens et des mouvements transfrontaliers de nombreux polluants organiques persistants capables de perturber la fonction endocrinienne, cette question continuera sans doute de susciter des débats animés et demeurera probablement un domaine de recherche prioritaire pendant encore un bon nombre d'années.

REMERCIEMENTS

Nous souhaitons témoigner notre reconnaissance au D[r] Steve Clarkson et aux membres du groupe de travail sur les substances perturbatrices du système endocrinien de la Direction générale de la protection de la santé (DGPS), en particulier à Daniel Desaulniers, Gerard Cooke, Wayne Bowers et Mark Feely pour leurs précieux commentaires sur ce document.

ANNEXE 1 : ACTIVITÉS DE SANTÉ CANADA

La possibilité que les substances perturbatrices du système endocrinien (SPSE) provoquent des effets indésirables sur la santé des populations humaines, dont le cancer, des malformations congénitales et des troubles neurologiques et génésiques, est une question jugée très sérieuse par Santé Canada. Aussi, le Ministère a-t-il adopté une stratégie qui comporte trois volets principaux : 1) la recherche; 2) la coordination et la coopération et 3) la contribution au développement de méthodes d'essai. ***Recherche*** **:** Étant donné le manque de connaissances scientifiques fondamentales sur les SPSE et les incidences éventuelles d'un lien avec la santé humaine pour l'établissement des politiques, un volet de recherche solide est essentiel si nous voulons mettre en œuvre une stratégie efficace pour faire face à ce problème. Il y a un certain nombre de chercheurs scientifiques dans plusieurs divisions de la DGPS dont les recherches portent directement sur les effets des SPSE sur la santé. En outre, Santé Canada a administré une initiative récente visant à financer de nouvelles recherches sur les SPSE dans le cadre de l'Initiative de recherche sur les substances toxiques, un programme de 40 millions de dollars qui vise spécifiquement les SPSE comme étant l'une des cinq questions liées aux substances toxiques dans l'environnement. ***Coordination et coopération :*** Dans le but de coordonner les activités de Santé Canada sur les SPSE, on a constitué un groupe de travail composé de scientifiques et de gestionnaires de diverses divisions de Santé Canada, y compris de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA). Ce groupe constitue une tribune pour le partage de l'information au sujet des SPSE au sein de Santé Canada, la définition des priorités en ce qui concerne la recherche et d'autres activités, et l'intégration du programme de Santé Canada et des initiatives en cours dans d'autres ministères grâce à sa participation au Groupe de travail sur les SPSE des cinq ministères dont la vocation est liée aux ressources naturelles. **Développement de méthodes d'essai :** Pour l'instant, il n'existe aucun essai prédictif validé pour détecter la toxicité pour le système endocrinien. Santé Canada compte des représentants au sein du comité de l'Organisation de coopération et de développement économiques, du Groupe de travail sur l'essai et l'évaluation des perturbateurs endocriniens, qui est en voie de développer une batterie complète de tests pour reconnaître les produits chimiques susceptibles d'avoir des effets néfastes sur la physiologie endocrinienne.